Aus der Abteilung Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. H. D. Waller
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

ZUR SEROLOGISCHEN UND KLINISCHEN DIFFERENTIALDIAGNOSE VON CHOLOSTATISCHER CHRONISCH-AGGRESSIVER HEPATITIS UND PRIMÄR-BILIÄRER ZIRRHOSE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Karl-Heinz Merk
aus Rottweil

1978

Aus der Abteilung Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. H. D. Waller
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

ZUR SEROLOGISCHEN UND KLINISCHEN DIFFERENTIALDIAGNOSE VON CHOLOSTATISCHER CHRONISCH-AGGRESSIVER HEPATITIS UND PRIMÄR-BILIÄRER ZIRRHOSE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Karl-Heinz Merk
aus Rottweil

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. Dr. H.-E. Hoffmeister
Berichterstatter: Prof. Dr. P. A. Berg
(Prof. Dr. H. D. Waller)

Die vorliegende Arbeit entstand an der Abteilung II der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen (Vorstand: Prof. Dr. H. D. Waller) unter Anleitung von Herrn Privatdozent Dr. P. A. Berg mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Für jegliche Unterstützung möchte ich mich an dieser Stelle herzlich bedanken. Besonderen Dank schulde ich den technischen Assistentinnen für ihr freundliches Entgegenkommen.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
KRANKENGUT UND DIAGNOSTIK	8
METHODEN	12
I Herstellung von Mitochondrien und subzellulären Antigenen	12
1) Überstand 40.000 rpm (SN 40)	12
2) Gradientenzentrifugation des Überstandes 40.000 rpm	12
3) Kombinierte Gradientenzentrifugation	13
II Komplementbindungsreaktion (KBR)	13
III Immunfluoreszenztest (IFL)	14
ERGEBNISSE	15
Klinischer Teil	15
I Charakterisierung der cholostatisch verlaufenden CAH (Mischform) mit Hilfe des Mischform - Marker - Antigens. Klinische Abgrenzung zur primär - biliären Zirrhose	16
1) Verhalten der alkalischen Phosphatase	16
2) Bilirubinwerte	18
3) Transaminasen - Aktivität (GOT)	20
4) Immunglobuline	22
5) Quantitative Immunglobulinbestimmung	23
6) Antikörpermuster bei Patienten mit Mischform und primär - biliärer Zirrhose	26
7) Histologische Befunde bei den 58 Patienten mit antimitochondrialen Antikörpern	27

II Doppelblindstudie an 25 AMA - positiven Patienten aus dem DRK - Krankenhaus Hamburg 28

III Synopsis der Klinik der Mischform und der primär - biliären Zirrhose (PBC) 33

Serologischer Teil 39

I Serologische Untersuchungen zur Spezifität zytoplasmatischer Antikörper und ihrer Titerhöhe 39

II Charakterisierung der für PBC und Mischform spezifischen mitochondrialen Antikörper 41

III Vergleich der Titer zwischen Mischform - Seren, PBC - Seren und Seren von Patienten mit mikrosomalen Antikörpern 41

IV Zur Heterogenität der Mischform - Antikörper 44

DISKUSSION 48

ZUSAMMENFASSUNG 55

LITERATURVERZEICHNIS 57

EINLEITUNG

Die Einteilung chronischer Leberkrankheiten richtet sich vorwiegend nach morphologischen Kriterien, wobei man in Anlehnung an die Definition der Studiengruppe der European Assoziation for the Study of the Liver eine chronisch - persistierende und eine chronisch - aktive (aggressive) Hepatitis unterscheidet. (16)

Dieser vorwiegend nach morphologischen Kriterien orientierten Einteilung kann man die immunologische Klassifizierung gegenüber stellen, die versucht, aufgrund der verschiedenen Antikörpermuster und der Verteilung ätiologischer Marker- - Antigene wie des Hepatitis B - Antigens chronische Leberkrankheiten nach ätiologischen Gesichtspunkten aufzuschlüsseln. Zwei Hauptgruppen sind hierbei vor allem zu unterscheiden:

1. die chronische Hepatitis viraler Genese,
2. die chronische Hepatitis autoimmuner Genese.

Bei den autoimmunen Hepatitiden ist noch nicht geklärt, ob sie nicht auch Folge einer Hepatitis B - Virus - Infektion sein können. (9) In diesem Falle wäre anzunehmen, daß das Virus Autoantigene so verändert, daß sie zur Produktion von Autoantikörpern führen. Man kann jedenfalls davon ausgehen, daß nach dem Entstehen von "Neo-Antigenen" Antikörper gebildet werden, die sowohl gegen Virus assoziierte Antigene wie auch gegen Autoantigene gerichtet sind. Insofern darf daraus gefolgert werden, daß Autoantikörper eine hohe Spezifität besitzen, auch hinsichtlich der Ätiologie einer Erkrankung.

Dieses Konzept entspricht auch den klinischen Beobachtungen: So findet man antimitochondriale Antikörper (AMA) vor allem bei cholostatisch verlaufenden chronischen Hepatitiden und der chronisch destruierenden nicht eitrigen Cholangitis (PBC), während bei den klassischen chronisch - aggressiven (lupoiden) Hepatitiden vorwiegend Antikörper gegen Kerne und glatte Muskulatur vorkommen. (5, 6, 8, 10, 11, 18)

Die hohe Spezifität der Antikörper ist für die Krankheitsgruppe der Kollagenosen schon lange bekannt. So kommen Antikörper gegen Doppelstrang - DNS zum Beispiel beim aktiven Lupus Erythematodes vor, ebenso präzipitierende Antikörper gegen ein Sm - Antigen (soluble nuclear antigen), während RN-ase - sensible präzipitierende Antikörper und Antikörper gegen ein extrahierbares nukleäres Antigen (ENA) vorwiegend bei der Mixed Connective Tissue Disease nachweisbar sind. (45) Auch bei der Sklerodemie scheinen vorwiegend nucleoläre, d. h. mit RNS assoziierte Antikörper vorzukommen. Diese verschiedenen Antikörperspezifitäten entsprechen oft unterschiedlichen klinischen Verläufen. So fand Sharp bei 78 % von Patienten mit aktivem Lupus Erythematodes ohne renale Beteiligung Antikörper gegen ENA, während bei den Patienten mit renaler Beteiligung in 100 % der Fälle Antikörper gegen doppelsträngige DNS nachgewiesen werden konnten. (45) Auch die Antikörper gegen glatte Muskulatur entsprechen einer heterogenen Reaktion. So konnte von Gabbiani et al. gezeigt werden, daß die Antikörper gegen glatte Muskulatur (SMA) in Seren von Patienten mit

chronisch - aggressiver Hepatitis gegen das kontraktile Protein Aktin gerichtet sind. (22) Dieses Antigen kommt in der glatten Muskulatur der Gefäße, der Muskularis mucosae und den Myoepithelien in den Drüsen vor. Antikörper gegen glatte Muskulatur reagieren auch mit Glomeruli und mit Hepatozyten- und Lymphozytenmembranen. (19, 26) In der Gruppe der Antikörper gegen glatte Muskulatur sind auch solche gegen Myosin enthalten. Diese kommen allerdings nicht bei Lebererkrankungen vor.

Die Antikörper gegen glatte Muskulatur werden vor allem bei virusbedingten Erkrankungen bevorzugt gebildet; man findet sie bei der akuten Virushepatitis (20), bei Zytomegalie (2) und der infektiösen Mononukleose. (1, 25) Bei der klassischen lupoiden Hepatitis sind sie immer mit Kernantikörpern assoziiert (6), bei der HBs - Antigen - positiven chronischen Hepatitis zeigen sie oft einen progredienten Verlauf an. Die primär - biliäre Zirrhose kann sie gelegentlich aufweisen, (10, 18) relativ häufig sind sie dagegen bei der cholostatisch verlaufenden CAH mit Antikörpern gegen Mitochondrien assoziiert.

Diese Heterogenität der Antikörper gegen Kerne und glatte Muskulatur trifft auch für die antimitochondrialen Antikörper zu.

So ist schon lange bekannt, daß mitochondriale Antikörper vor allem im Stadium II der Syphillis vorkommen. Diese Antikörper reagieren mit dem Kardiolipin - Antigen, einem Antigen der inneren mitochondrialen Membran. (7) Diese Antikörper

unterscheiden sich von denen der primär - biliären Zirrhose dadurch, daß sie mit Kardiolipin leicht absorbiert werden können und die Antigene durch organische Lösungsmittel (Aceton, Äther) in ihrer Spezifität nicht verändert oder zerstört werden. (7)

Ein zweiter antimitochondrialer Antikörper, der wahrscheinlich gegen lösliche Proteine des Mitochondriums gerichtet ist, wurde bei Patienten mit dem durch Venopyronum Dragees ausgelösten Pseudo - LE -Syndrom gefunden. (31) Diese Antikörper reagieren nicht mit dem für die primär - biliäre Zirrhose spezifischen Antigen innerer Membranen. (5, 8)

Diese Beobachtungen ließen vermuten, daß eventuell auch Unterschiede bestehen hinsichtlich der Spezifität der Antikörper bei der primär - biliären Zirrhose und der cholostatisch verlaufenden CAH. So konnte kürzlich durch isopyknische Gradientenzentrifugation gezeigt werden, daß Seren von Patienten mit primär - biliärer Zirrhose und cholostatisch verlaufender CAH mit einem Antigen der Dichte von 1.19 reagierten(5), während Seren von Patienten mit cholostatisch verlaufender CAH zusätzlich mit einer Antigenfraktion eine komplementbindende Aktivität zeigten, die die Dichte von etwa 1.12 bis 1.14 hatte. Seren von Patienten mit primär - biliärer Zirrhose reagierten nicht mehr in der Komplementbindungsreaktion mit diesem gereinigten Antigen. Für diese Antikörper gilt, daß sie weder organ- noch speziesspezifisch sind. Allerdings konnten Swana und Mitarbeiter kürzlich zeigen, daß in etwa

50 von 9 000 untersuchten AMA - positiven Seren Antikörper enthalten waren, die spezifisch und ausschließlich nur mit menschlichem Gewebe reagierten. Diese für humanes Gewebe spezifischen antimitochondrialen Antikörper fanden sich in 3 Fällen von PBC sowie bei Patienten mit organspezifischen Polyendokrinopathien und bei primär - chronischer Polyarthritis (53).

Diese Beobachtungen deuten jedenfalls darauf hin, daß die Heterogenität dieser Antikörper sehr groß ist und man davon ausgehen muß, daß bei diesen Erkrankungen verschiedene Typen von Antikörpern gleichzeitig vorkommen.

In diesem Zusammenhang ist von Interesse, daß neuerdings auch mikrosomale Antikörper sowohl bei Patienten mit chronisch - aggressiver Hepatitis als auch bei cholostatisch verlaufenden Formen beobachtet werden konnten (47). Diese Antikörper scheinen gegen ein Lipoprotein des endoplasmatischen Retikulums gerichtet zu sein (36). Das antimikrosomale Fluoreszenzmuster bei Nachweis von mikrosomalen Antikörpern in der KBR ist nur sehr schwer von dem der mitochondrialen Antikörper zu unterscheiden. Wahrscheinlich gibt es auch hier verschiedene Typen. So scheinen die bei der CAH vorkommenden mikrosomalen Antikörper nicht mit den Parietalzellen des Magens und den Mikrosomen der Schilddrüse zu reagieren, während Antikörper gegen Ribosomen mit allen Geweben eine gleich starke Fluoreszenz zeigen.

Folgende Schlüsse können aus den bisherigen Beobachtungen

gezogen werden:

1. Die juvenile lupoide autoimmune Hepatitis läßt sich mit Hilfe der Antikörper gegen Kerne, glatte Muskulatur und Desoxyribonukleinsäure (DNS) eindeutig charakterisieren und von anderen Formen autoimmuner Erkrankungen unterscheiden.
2. Die primär - biliäre Zirrhose kann eindeutig diagnostiziert werden durch den Nachweis der Antikörper gegen die innere Membranen der Mitochondrien.

Für die autoimmune cholostatisch verlaufende CAH wurde bisher postuliert, daß sie eine Überlappung darstellt zwischen einer lupoiden Hepatitis und einer chronisch - destruierenden nicht eitrigen Cholangitis. (PBC) Diese von Walker und Doniach aufgestellte Hypothese basierte vor allem auf der Beobachtung, daß in solchen Fällen Antikörper gegen Kerne und glatte Muskulatur mit mitochondrialen Antikörpern assoziiert waren. (17)

Die neuerdings bei der cholostatisch verlaufenden CAH beobachteten komplementbindenden Antikörper gegen eine Unterfraktion der mitochondrialen Antigene lassen dagegen vermuten, daß es sich bei der AMA - positiven cholostatisch verlaufenden CAH um ein eigenständiges Krankheitsbild handelt, das sich auch klinisch, biochemisch und morphologisch jedenfalls in den Endstadien von der primär - biliären Zirrhose unterscheiden läßt. Da die cholostatisch verlaufende CAH klinisch wie auch morphologisch Merkmale sowohl von der primär - biliären Zirrhose wie auch der chronisch - aggressiven

Hepatitis vereint, nennen wir sie im folgenden Mischform. Diesen Terminus wandten wir nur für jene Fälle an, die mit dem Antigen der Dichte 1.10 (s. Methoden I 3) spezifische Reaktionen zeigten. Es muß allerdings festgehalten werden, daß es daneben doch noch den Überlappungstyp gibt, der sich dadurch auszeichnet, daß Antikörper gegen Kerne und glatte Muskulatur auf der einen Seite und Mitochondrien auf der anderen Seite im Wechsel auftreten. Auf die Möglichkeit dieser Überlappung wurde in verschiedenen klinischen- wie morphologischen Untersuchungen hingewiesen. (13, 30, 35, 41, 46)

Die vorliegende Arbeit versucht, die Klinik der cholostatisch verlaufenden CAH bzw. Mischform anhand der serologischen Parameter neu zu definieren. In einem zweiten Teil werden serologische Untersuchungen hinsichtlich der Spezifität bei der primär - biliären Zirrhose und der Mischform besprochen und auf die jeweilige Antikörpertiterhöhe im Ablauf der Krankheit hingewiesen.

KRANKENGUT UND DIAGNOSTIK

Die Auswertung stützt sich auf 58 Patienten die in folgenden Kliniken und Krankenhäusern untersucht wurden:

DRK - Krankenhaus Hamburg (Prof. Dr. H. Lindner), Privatklinik in Kempfenhausen (Dr. H. Bannaski), BfA - Klinik Bad Kissingen (Dr. H. Brügel), BfA - Klinik Föhrenkamp, Mölln (Dr. H. Henning), Med. Univ. Klinik Tübingen(Prof. Dr. W. Dölle), Kreiskrankenhaus Herrenberg (Dr. M. Krebs), Robert - Bosch - Krankenhaus Stuttgart (Dr. G. Seybold), Sanatorium am Frauenberg in Bad Mergentheim (Dr. W. Boecker).

Bei der Korrelation der histologischen Ergebnisse mit den klinisch - immunologischen Daten beschränkten wir uns nur auf zwei histologische Stadien: das praezirrhotische Stadium (I - III) und das ausgeprägte Zirrhosestadium (IV).

Aus dem DRK - Krankenhaus Hamburg untersuchten wir 25 Patienten. Hierbei wurde 13 mal die Diagnose der Mischform und 12 mal die der primär - biliären Zirrhose gestellt. Dieses Krankengut wurde von Dr. H. J. Sack unabhängig von unseren Ergebnissen in Zusammenarbeit mit Dr. G. Klöppel am Patholog. Institut der Univ. Hamburg untersucht.

Folgende biochemische Parameter wurden bei allen Patienten ausgewertet: Alkal. Phosphatase, Transaminasen (GOT), Bilirubin, Cholesterin, Gamma - Globuline und quantitative Immunglobuline.

MISCHFORMEN

Nr.	Name	Geb. Datum	ursprüngl. klin. Diagnose
1	B. R.	07. 01. 25	chron. Cholangitis u. Hepatitis
2	B. L.	06. 08. 98	V.a. PBC
3	B. H.	25. 09. 99	CAH, LC
4	B. A.	07. 07. 16	CAH, LC oder PBC
5	B. H.	05. 06. 25	CAH, LC (postnekrotisch)
6	C. A.	10. 05. 20	postnekrot. LC
7	E. U.	24. 01. 20	V.a. PBC
8	F. C.	12. 11. 21	PBC
9	G. H.	11. 08. 10	postnekrot. LC
10	G. A.	27. 08. 12	CAH
11	H. H.	25. 11. 19	CAH
12	H. M.	12. 03. 92	CAH
13	H. A.	20. 01. 27	V.a. PBC
14	H. A.	26. 10. 23	CAH oder PBC
15	H. T.	07. 09. 11	LC, z.B. PBC
16	J. E.	02. 07. 03	CAH
17	J. U.	31. 08. 15	CAH
18	K. L.	29. 07. 18	PBC
19	K. E.	12. 12. 02	V.a. PBC
20	K. B.	21. 01. 23	PBC
21	M. G.	14. 05. 22	CAH, LC
22	O. K.	13. 05. 21	CAH, LC
23	O. C.	13. 12. 03	V.a. PBC
24	P. M.	17. 05. 07	postnekrot. LC
25	P. M.	28. 10. 25	V.a. PBC
26	R. J.	12. 11. 28	PBC
27	R. H.	07. 02. 20	V.a. PBC
28	S. A.	15. 12. 95	CAH, LC
29	S. V.	12. 10. 13	CAH
30	S. R.	28. 03. 13	PBC

Nr.	Name	Geb. Datum	ursprüngl. klin. Diagnose
31	S. U.	12. 05. 21	PBC
32	S. C.	23. 11. 05	CAH
33	U. F.	26. 03. 20	CAH, LC
34	W. P.	06. 11. 05	CAH, LC

Tab. I : Patienten mit dem Nachweis von für das Mischform- - Antigen spezifischen Antikörpern (Mischform - - Typen)
CAH : chronisch - aggressive Hepatitis
LC : Leberzirrhose
V.a.: Verdacht auf
PBC : primär - biliäre Zirrhose

PRIMÄR - BILIÄRE ZIRRHOSEN

Nr.	Name	Geb. Datum	ursprüngl. klin. Diagnose
1	A. A.	06. 02. 30	PBC
2	B. K.	16. 07. 14	PBC
3	B. H.	14. 05. 07	PBC
4	D. E.	07. 10. 21	PBC
5	E. G.	05. 10. 14	PBC
6	F. E.	17. 12. 18	V.a. PBC
7	G. L.	15. 06. 19	PBC
8	G. J.	20. 01. 24	PBC
9	H. G.	02. 05. 11	PBC und/oder CAH
10	H. A.	11. 06. 20	PBC
11	H. A.	03. 02. 23	V.a. PBC
12	H. H.	18. 02. 22	V.a. PBC
13	J. U.	14. 05. 14	PBC
14	L. E.	19. 09. 12	PBC
15	L. M.	10. 05. 15	PBC
16	L. F.	16. 08. 12	V.a. PBC
17	M. J.	29. 01. 12	PBC
18	P. H.	02. 02. 28	PBC
19	R. L.	22. 03. 07	PBC
20	S. L.	29. 12. 21	PBC und/oder CAH
21	S. I.	15. 09. 08	PBC
22	S. E.	01. 07. 26	PBC
23	S. M.	26. 06. 10	PBC
24	T. E.	09. 02. 29	PBC

Tab. II : Patienten mit dem Nachweis der für die PBC spezifischen Antikörper
V.a. PBC : Verdacht auf primär - biliäre Zirrhose

METHODEN

I Herstellung von Mitochondrien und subzellulären Antigenen

1) Überstand 40.000 rpm (SN 40)

Die Präparation von Mitochondrien aus Rattenleber und - nieren erfolgte nach der Methode, wie bei Berg et al. beschrieben(11). Die für die Komplementbindungsreaktion benötigten Mitochondrien wurden 6 mal mit Saccharose-puffer gewaschen (0,2 M Saccharose, 3,4 mM Tris- und 1 mM EDTA - Puffer).

Der bei der Mitochondrienpräparation gewonnene Überstand wurde durch zwei weitere Zentrifugationen bei 15.500 rpm 45 Minuten (Sorvall - Zentrifuge, Rotor SS 34) und bei 40.000 rpm 60 Minuten (Beckmann Spinco L 2 50 B, Rotor Titan 60) zum Überstand 40.000 rpm verarbeitet. Dieser Überstand bei 40.000 rpm (SN 40) diente für die folgenden Zentrifugationen als Ausgangsfraktion.

2) Gradientenzentrifugation des Überstandes 40.000 rpm

Der bei 1) gewonnene Überstand (SN 40), der aus einem Gemisch löslicher zytoplasmatischer und subzellulärer Antigene besteht, wurde auf Saccharosegradienten der Dichte 1.099 (24 %)+, 1.122 (29 %), 1.146 (34 %), 1.166 (38 %), 1.192 (43 %), 1.240 (52 %) gelegt und anschließend im Ausschwingrotor SW 27 bei 82.000 g über 60 Stunden zentrifugiert. (25.000 rpm, Beckmann Zentrifuge) Nach iso-

+) Sämtliche Prozentangaben sind Gewichtsprozente.

lierter Abnahme der Dichtegradienten mittels feiner Pasteurpipetten wurde die Verteilung der Antigene durch hochtitrige Standartseren von Patienten mit PBC, cholostatischer CAH und PLE - Syndrom bestimmt.

3) Kombinierte Gradientenzentrifugation

Der unter 2) gewonnene Gradient der Dichte 1.146 (34 %) wurde mit Saccharosepuffer auf die Dichte 1.10 verdünnt und erneut auf Saccharosegradienten der Dichte 1.146 (34 %), 1.166 (38 %) und 1.192 (43 %) gelegt. Zentrifugation in SW 50 bei 176.000 g (50.000 rpm, Beckmann Zentrifuge) über 15 Stunden. Die einzelnen isoliert abgenommenen Gradientenfraktionen wurden analog zu 2) mit PBC-, Pseudo - LE-, antimikrosomalen- sowie Mischform - Standartseren in der qualitativen KBR getestet. Seren die mit der Dichte 1.10 reagierten wurden als Mischform - Typ klassifiziert.

II Komplementbindungsreaktion (KBR)

Die Titer der AMA - positiven Seren wurden mittels der qualitativen KBR bestimmt, in Anlehnung an die Methode von Roitt und Doniach (38). Die Seren wurden bis 1:128.000 austitriert. Den dadurch verdünnten Seren wurden 2 MHD Komplement (d. h. doppelte Menge von Komplement, bei der die sensibilisierten Schaferythrozyten gerade lysiert werden) und unverdünntes Antigen der gereinigten Gradienten zugegeben. Die Schaferythrozyten wurden auf eine 3 %ige Suspension verdünnt.

III Immunfluoreszenztest (IFL)

Alle Seren wurden gleichzeitig in der IFL auf AMA und andere organspezifischen- und organunspezifischen Antikörper getestet (39), dabei wurden menschliche und tierische Gewebe verwendet (Niere, Leber, Magen, Schilddrüse).

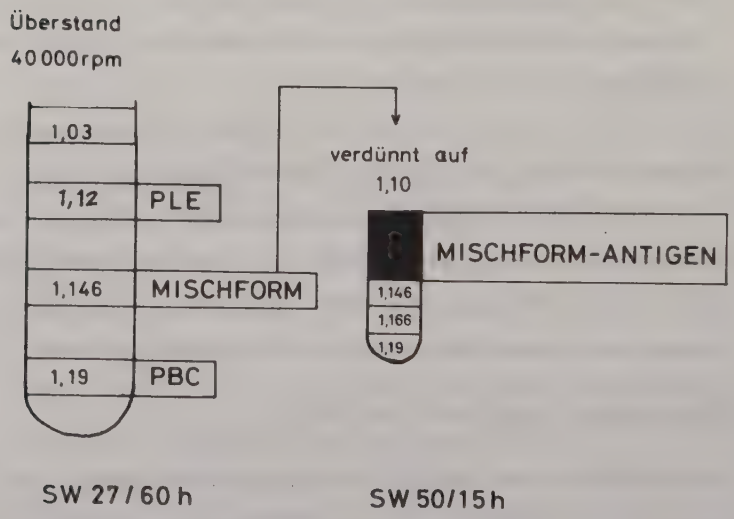

Abb. 1: Isolierung des Mischform - Antigens der Dichte 1.10 mit Hilfe einer kombinierten Saccharosegradienten-Zentrifugation.

ERGEBNISSE

Klinischer Teil

Die klinischen-, biochemischen- und morphologischen Parameter bei Patienten mit dem Nachweis antimitochondrialer Antikörper wurden an insgesamt 58 Patienten, die aus verschiedenen Krankenhäusern und Kliniken stammten, ausgewertet. Gesondert besprochen werden 25 Patienten aus dem DRK - - Krankenhaus Hamburg, deren Histologie uns aus speziellen Untersuchungen bekannt war.

Die serologische Klassifizierung erfolgte mit Hilfe der Ergebnisse aus den mitochondrialen Gradientenzentrifugationen. Seren, die sowohl mit dem Gradienten der Dichte 1.19 (60 Stunden - Zentrifugation) als auch dem MF - Gradienten der Dichte 1.10 (15 Stunden - Zentrifugation) gleichzeitig reagierten, wurden als Mischform - Typen eingeordnet; Seren die ausschließlich mit dem Gradienten der Dichte 1.19 hochtitrig reagierten, konnten als primär - biliäre Zirrhose-Fälle identifiziert werden.

Die Auswertung der biochemischen Daten erfolgte anhand der uns zur Verfügung gestellten Parameter aus den verschiedenen Krankenhäusern und Kliniken. In den meisten Fällen konkonnten wir uns auf Verlaufsuntersuchungen von mehreren Jahren stützen. In allen Fällen lag uns ein histologisches Ergebnis vor.

Unter den 58 AMA - positiven Patienten befanden sich 25 aus dem DRK - Krankenhaus Hamburg (Prof. Dr. H. Lindner). In einer gesonderten gemeinsamen Studie mit Herrn Prof. Lindner und Herrn Priv. Doz. Dr. Klöppel (am pathologischen Institut der Univ. Hamburg) wurden die serologischen-, morphologischen- und klinischen Daten in einem Doppelblindversuch korreliert. Die Ergebnisse dieser Studie sind in der Zwischenzeit publiziert oder auf Kongressen bereits vorgetragen worden.

I. Charakterisierung der cholostatisch verlaufenden CAH (Mischform) mit Hilfe des Mischform - Marker - Antigens. Klinische Abgrenzung zur primär - biliären Zirrhose.

Die biochemischen Ergebnisse sind in Früh- und Spätstadien aufgeteilt. Ein Spätstadium wurde immer dann angenommen, wenn histologisch bzw. laparoskopisch die Diagnose einer ausgeprägten Zirrhose gestellt wurde; ein Frühstadium wurde dann angenommen, wenn entweder Zeichen der chronisch - aktiven Hepatitis noch im Vordergrund standen oder ausgeprägte entzündliche periportale Veränderungen mit Gallengangsproliferationen bestanden.

1. Verhalten der alkalischen Phosphatase bei Patienten mit Mischform u. primär - biliärer Zirrhose.

In Abb. 2 wurde die Höhe der alkalischen Phosphatase in

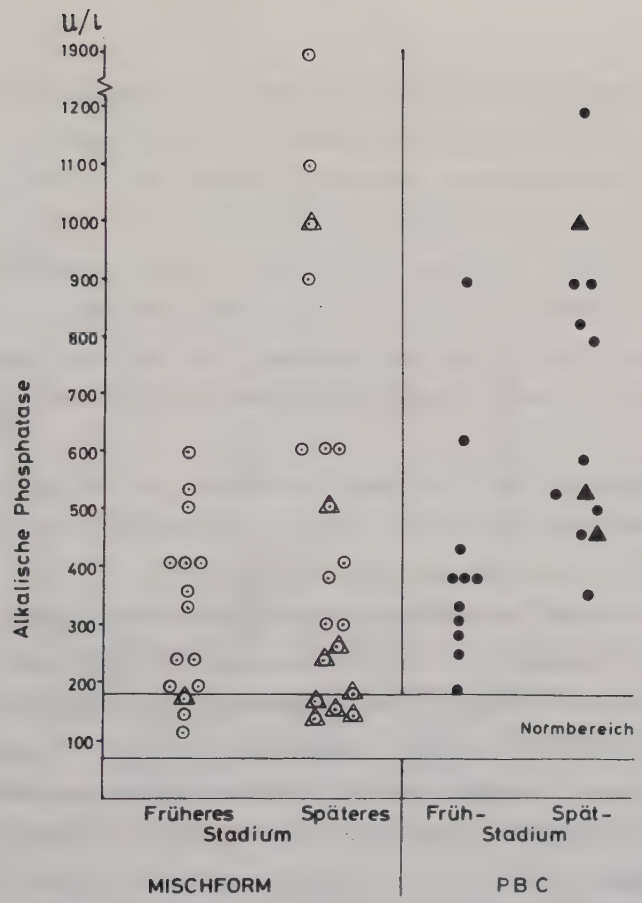

Abb. 2: Vergleich der Alkalischen Phosphatase- Aktivität bei 24 Patienten mit primär - biliärer Zirrhose und 34 Patienten mit Mischform, in Abhängigkeit des Krankheitstadiums.(PBC: Stad. I-III = Früh-, Stad. IV = Spätstadium. Mischform: Zeichen der aktiven Hepatitis= Früheres Stadium, Zeichen der ausgeprägten grobknotigen Zirrhose = Späteres Stadium)(Dreiecke: Patienten unter immunsuppressiver Therapie.)

Abhängigkeit der Stadien aufgetragen. Ein signifikanter Unterschied konnte zwischen den Mischformen und den primär - biliären Zirrhosen nicht festgestellt werden. Der Mittelwert betrug bei den Mischformen im Spätstadium 518,5 U/l, bei primär - biliärer Zirrhose 720 U/l (keine Signifikanz: $p > 0,05$). Auch in früheren Stadien bestehen keine signifikanten Unterschiede. Hier beträgt der Mittelwert bei den Mischformen 319,92 U/l, bei den primär - biliären Zirrhosen 458,1 U/l ($p > 0,05$).

Dagegen war die alkalische Phosphatase in den Spätstadien der PBC deutlich höher als in den Frühstadien. Frühstadium 458,1 U/l, Spätstadium 720,0 U/l ($p < 0,05$).

Die in der Abbildung aufgeführten Dreiecke beziehen sich auf Patienten, bei denen eine immunsuppressive Therapie durchgeführt wurde. Diese Patienten wiesen häufiger niedrigere Werte für die alkalische Phosphatase auf als die unbehandelten. Dieses Phänomen ließ sich bei den wenigen behandelten Fällen von primär - biliärer Zirrhose nicht so eindeutig beobachten.

2. Bilirubinwerte bei Patienten mit Mischform und primär - - biliärer Zirrhose.

Im Gegensatz zu den Befunden der alkalischen Phosphatase ließensich bei der Aufschlüsselung der Bilirubinwerte signifikante Unterschiede nachweisen, wenn die Spätformen verglichen wurden.(Abb. 3) So betrug der Mittelwert bei den

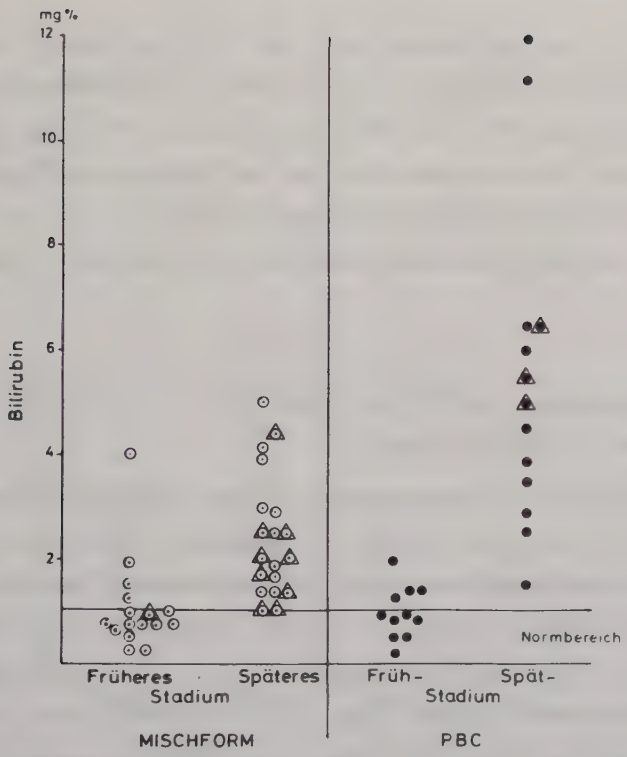

Abb. 3: Vergleich der Bilirubinwerte bei 24 Patienten mit primär - biliärer Zirrhose und 34 Patienten mit Mischform in Abhängigkeit des Krankheitsstadiums. (Stadieneinteilung: s. Abb. 2)(Dreiecke: Patienten unter immunsuppressiver Therapie)

Mischformen 2,18 mg%, bei den primär - biliären Zirrhosefällen dagegen 5,47 mg% ($p < 0,05$). In den Frühstadien ließ sich dieser Unterschied nicht feststellen. Die Mittelwerte betru-

gen hier für die Mischformen o,74 mg%, für die primär - biliären Zirrhosen o,92 mg%. Ferner bestand ein signifikanter Unterschied in der Höhe des Bilirubins zwischen Früh- und Spät-Stadien bei beiden Krankheiten. Bei den Mischformen stiegen die Werte von 0,74 mg% auf 2,41 mg% im Mittel an, bei den primär - biliären Zirrhosen sogar von 0,93 mg% auf 5,47 mg% an.

3. Transaminasen - Aktivitäten (GOT) bei Mischform und primär - biliärer Zirrhose.

Für die Höhe der Transaminasen konnten keine signifikanten Unterschiede errechnet werden. So betrugen die Mittelwerte für die beiden Spätstadien 47,3 U/1 (Mischformen) und 57,0 U/1 (primär - biliäre Zirrhosen). In den Frühstadien betrug die GOT 34,8 U/1 für die Mischformen und 25,36 U/1 für die primär-biliären Zirrhosen. Jedoch ließ sich wie bei den anderen Parametern eine signifikante Erhöhung im Spätstadium gegnüber den Frühstadien feststellen (Abb. 4). Auch bei den Transaminasen zeigten die immunsupressiv behandelten Patienten durchschnittlich niedrigere Aktivitäten.

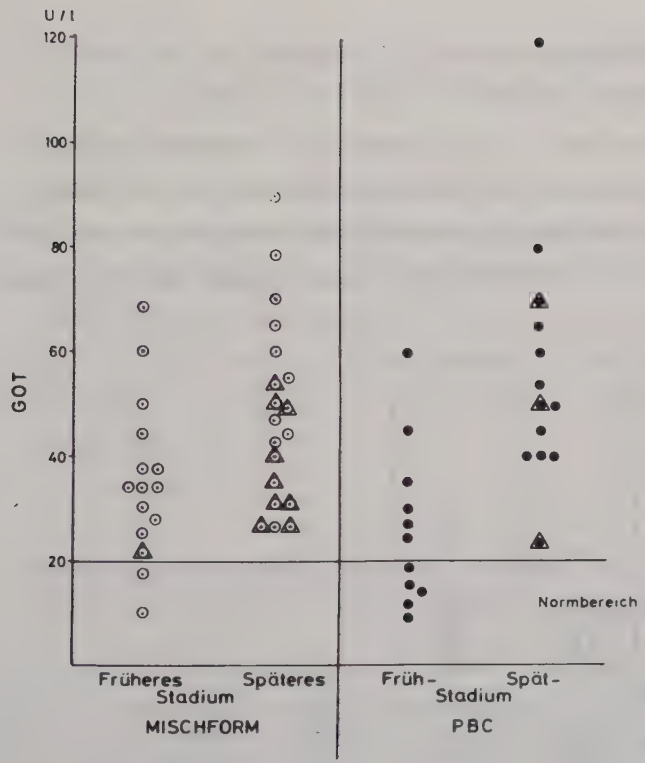

Abb. 4: Vergleich der Transaminasen - Aktivität (GOT) bei 24 Patienten mit primär - biliärer Zirrhose und 34 Patienten mit Mischform in Abhängigkeit des Krankheitsstadiums. (Stadieneinteilung: s. Abb. 2) (Dreiecke: Patienten unter immunsuppressiver Therapie)

4. Immunglobuline (Gamma - Globuline) bei Patienten mit Mischform und primär - biliärer Zirrhose.

Wie die Abb. 5 zeigt, bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten mit Mischform und primär-biliärer Zirrhose. So waren sowohl im Früh- wie im Spätstadium der Mischformen die Immunglobuline deutlich erhöht:

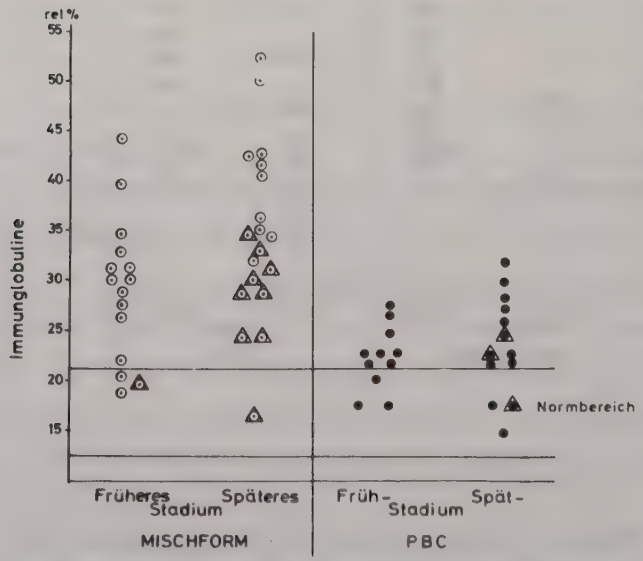

Abb. 5: Vergleich der Höhe der Immunglobuline bei 24 Patienten mit primär - biliärer Zirrhose und 34 Patienten mit Mischform in Abhängigkeit des Krankheitstadiums. (Stadieneinteilung s. Abb. 2)
(Dreiecke: Patienten unter immunsuppressiver Therapie)

Mittelwert für die Frühform 29,2 rel %, für die Spätform 34,6 rel %. Die Patienten mit primär - biliärer Zirrhose wiesen im Frühstadium mit 22,0 rel % und im Spätstadium mit 23,57 rel % deutlich niedrigere Konzentrationen auf. Für die Frühstadien bestand eine Signifikanz ($p < 0,05$), in den Spätstadien waren die Unterschiede hoch signifikant ($p < 0,01$).

Aus der Abbildung geht wiederum hervor, daß die immunsuppressiv behandelten Fälle (eingezeichnet als Dreieck) im Durchschnitt niedrigere Werte zeigten als die unbehandelten Patienten.

5. Quantitative Erfassung der Immunglobuline bei Patienten mit Mischform und primär - biliärer Zirrhose.

Die Unterschiede zwischen den primär - biliären Zirrhosen und Mischformen werden noch deutlicher, vergleicht man die IgG- und IgM - Globuline in den Früh- und Spätstadien beider Krankheiten (Abb. 6 und Abb. 7). Während die Immunglobuline vom IgG - Typ bei PBC - Patienten sowohl im Früh- wie im Spätstadium im Normbereich lagen (Mittelwert 1577 bzw. 1576 mg%), waren die IgG - Globuline bei den Mischformen im Frühstadium mit 2060 mg% mäßig und im Spätstadium mit 2657 mg% deutlich erhöht. Es bestand eine klare Signifikanz ($p < 0,05$) für die Frühstadien wie auch für die Spätstadien ($p < 0,01$).

Keine deutlichen Unterschiede konnten dagegen bei der Bestimmung der IgM - Globuline gefunden werden. Die Mittel-

werte betrugen bei den primär - biliären Zirrhosen im Frühstadium 470 mg%, im Spätstadium 472 mg%, bei den Mischformen im Frühstadium 550 mg%, im Spätstadium 425 mg% ($p > 0,05$).

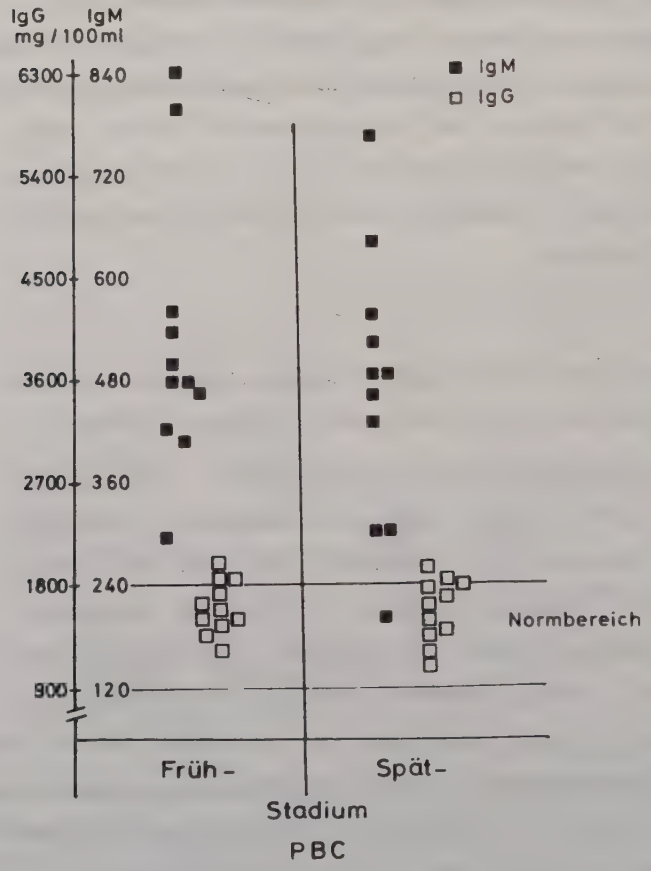

Abb. 6: IgM und IgG - Globuline bei 22 Patienten mit primär- - biliärer Zirrhose in Abhängigkeit vom Krankheits- - Stadium.
(Stad. I - III = Frühstadium, Stad. IV = Spätstadium)

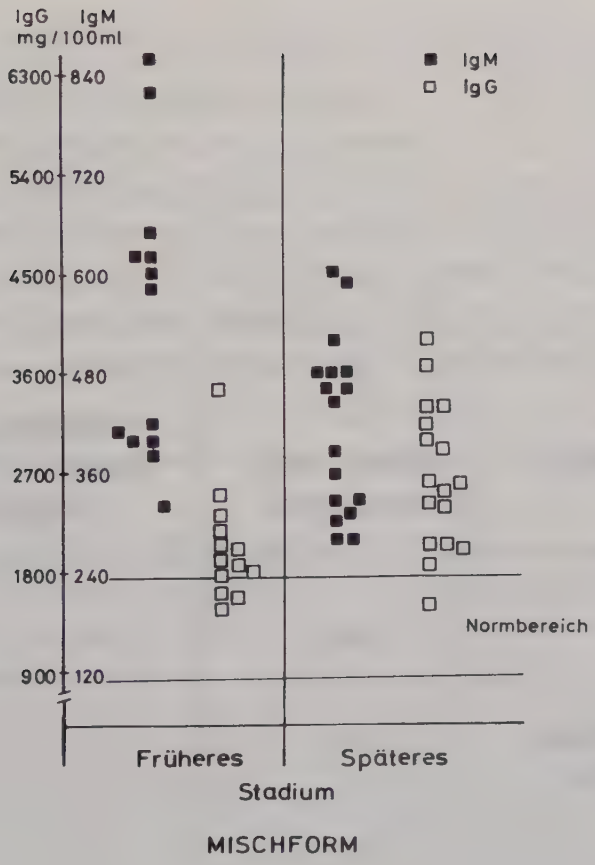

Abb. 7: IgM- und IgG - Globuline bei 30 Patienten mit cholostatisch verlaufender CAH oder Zirrhose (Mischform) in Abhängigkeit vom Krankheitsstadium. (Zeichen der aktiven Hepatitis praedominierend: Früheres Stadium, Zeichen der ausgeprägten grobknotigen Zirrhose: Späteres Stadium)

6. Antikörpermuster bei Patienten mit Mischform und PBC.

Die Ergebnisse aus unserem Gesamtkollektiv von 58 Patienten sind in Abb. 8 dargestellt. Unter den 34 Patienten mit Mischform hatten 18 gleichzeitig Antikörper gegen glatte Muskulatur, bei 8 Patienten ließen sich zusätzlich auch Antikörper gegen Kerne nachweisen. Dagegen wiesen unter den 24 Patienten mit PBC nur zwei Antikörper gegen glatte Muskulatur und ein Patient Antikörper gegen Kerne auf.

DIAGNOSE	ANZAHL DER PATIENTEN	ANTIKÖRPER GEGEN KERNE POSITIV	GL.MUSK. POSITIV
PBC	24	1	2
MISCHFORM (CAH/PBC)	34	8	18

Abb. 8 : Nachweis von Antikörpern gegen Kerne und glatte Muskulatur in Seren von 58 Patienten mit mitochondrialen Antikörpern.

7. Histologische Befunde bei den 58 Patienten mit antimitochondrialen Antikörpern.

Die histologischen Befunde wurden mit den Ergebnissen der immunologischen Klassifizierung verglichen. Dabei ließ sich feststellen, daß von den 24 Patienten, die serologisch als PBC eingestuft werden konnten, 22 morphologisch die klassischen Parameter einer PBC zeigten und bei 2 zugleich auch histologische Veränderungen einer CAH vorlagen. Unter den 34 Patienten die mit dem Mischform - Antigen reagierten, hatten 29 histologische Veränderungen im Sinne einer chronisch - aggressiven Hepatitis bzw. postnekrotischen Zirrhose. In 2 Fällen war das Bild der PBC ausgeprägt, in 3 weiteren Fällen bestanden Veränderungen, die auf einen gleichzeitigen Prozeß am Leberparenchym und den Gallengängen schließen ließen (Überlappungs - Typ).

II. Doppelblindstudie an 25 AMA - positiven Patienten aus dem DRK - Kankenhaus Hamburg in Zusammenarbeit mit Herrn Priv.Doz.Dr. G. Klöppel und Herrn Prof. Dr. H. Lindner.

In einer Doppelblindstudie wurden die klinischen- , morphologischen- und serologischen Diagnosen verglichen.

Dabei konnten die im vorigen Kapitel dargestellten Ergebnisse im wesentlichen bestätigt werden. Die alkalische Phosphatase zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Krankheitsbildern, auch die Transaminasen waren für die Differentialdiagnose nicht heranzuziehen.

Die Ergebnisse der Immunglobulinbestimmung und der quantitativen Immunglobuline sind in den folgenden zwei Abbildungen nochmals dargestellt, um die Bedeutung dieser Parameter für die Differentialdiagnose dieser beiden Krankheitsbilder herauszustellen. (Abb. 9 und Abb.10)

So konnte stadienunabhängig für die Immunglobuline bei den Mischformen ein Mittelwert von 32,65 rel % und für die primär - biliären Zirrhosen von 24,38 rel % gefunden werden ($p < 0,05$). Die quantitativen Immunglobuline zeigten das schon bekannte Muster: Immunglobuline vom IgG - Typ hielten sich bei den primär - biliären Zirrhosen mit einem Mittelwert von 1544 mg% im Bereich der Norm. Die IgG - Globuline waren bei den Mischformen mit einem Mittelwert von 2946 mg% deutlich erhöht (Signifikanz des Unterschiedes: $p < 0,05$). Dagegen

zeigten die IgM - Globuline bei beiden Krankheiten ähnliche Konzentrationen. Bei den Mischform - Patienten betrugen sie 480 mg% im Durchschnitt, bei den primär - biliären Zirrhosen 500 mg% ($p > 0,05$).

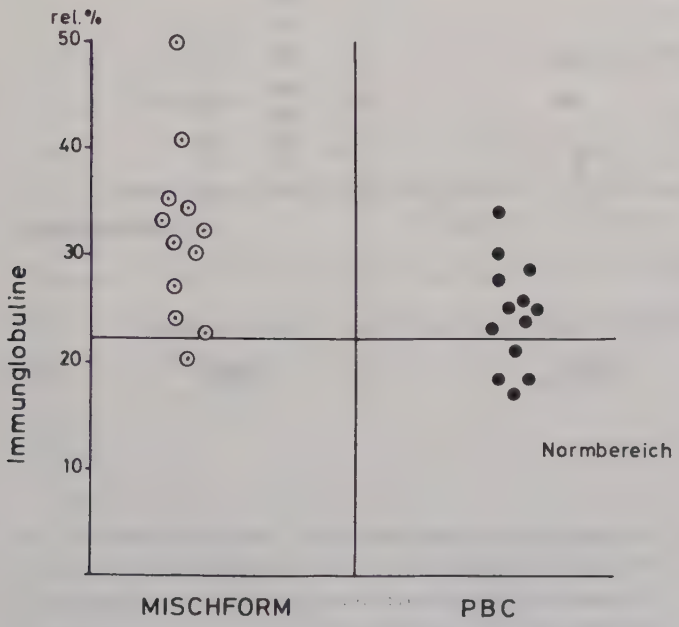

Abb. 9: Vergleich der Höhe der Immunglobuline bei 13 Patienten mit primär - biliärer Zirrhose und 12 Patienten mit cholostatischer CAH (Mischform) aus dem DRK - Krankenhaus Hamburg. (Diagnose histologisch gesichert im doppelblind - Verfahren).

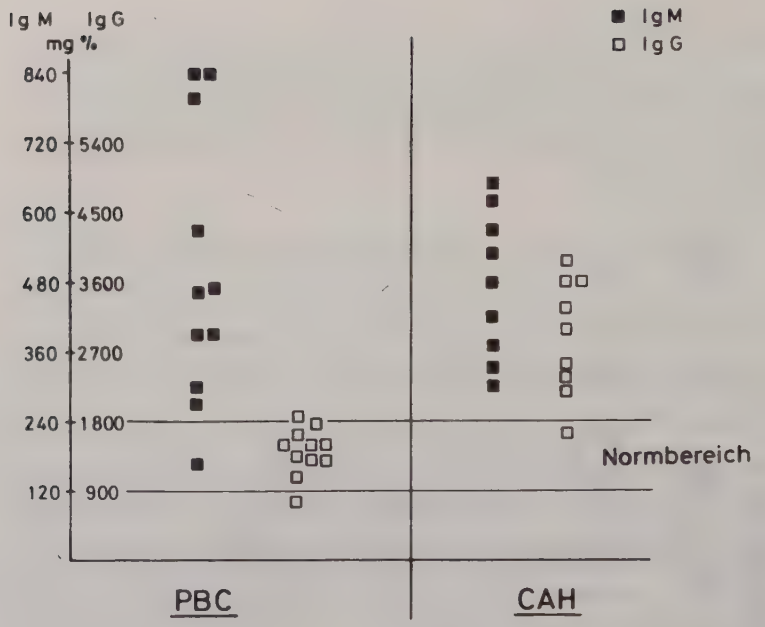

Abb.10: Vergleich der quantitativen Immunglobuline bei 11 Patienten mit primär - biliärer Zirrhose und 9 Patienten mit Mischform aus dem DRK - Krankenhaus Hamburg.(Die Anzahl der Patienten unterscheidet sich deshalb von denen in Abb. 8, weil bei 4 Patienten keine quantitative Immunglobulinbestimmung vorlag.)

Bei der Auswertung der Doppelblindstudie durch Herrn Priv. Doz.Dr. G. Klöppel konnte gezeigt werden, daß in den meisten Fällen von serologisch definierter Mischform bzw. cholosta-

tischer CAH auch histologisch ein Mischbild zwischen CAH und PBC vorlag. In den meisten Fällen fanden sich vermehrte ductuläre Proliferationen mit zum Teil schweren entzündlichen Reaktionen selbst im Spätstadium, ein Befund, der bei klassischen primär - biliären Zirrhosen nicht angetroffen wird. Hierbei sind die Gallengänge im Spätstadium meist vollständig zerstört und anstelle der entzündlichen Reaktion imponiert die ausgeprägte Fibrose.

Leitbefunde bei den klinischen Untersuchungen waren Pruritus, Hepatosplenomegalie, Ikterus, Sicca - Syndrom und Xanthomata.

Eindeutige Unterschiede zwischen beiden Krankheitsbildern ließen sich nicht erkennen. Die wesentlichen Ergebnisse sind in Tab. III dargestellt.

Klinische Symptome (in %)	PBC		Mischform	
	Früh- Stadium	Spät-	Früheres- Stadium	Späteres
Pruritus	42	100	25	71
Abgeschlagenheit	85	100	75	86
Hepatomegalie	57	75	100	71
Leberhautzeichen	14	88	25	57
Hypercholesterinämie	71	75	75	71
Xanthome / Xanthelasmen	0	50	0	29
Ikterus	0	63	0	40

Tabelle III : Vergleich der klinischen Symptome bei PBC - und Mischform-Patienten aus dem DRK - Krankenhaus Hamburg. Die Krankheitsstadien wurden in "Früh" und "Spät" unterteilt.
Diese Tabelle entstand in Zusammenarbeit mit Herrn Dr.H.J.Sack am DRK - Krankenhaus Hamburg.

Die Tab.III zeigt, daß Xanthomata bei der primär - biliären Zirrhose häufiger vorzukommen scheinen als bei Mischform - - Patienten (50 % gegenüber 29 %), daß ferner der Pruritus in den späteren Stadien bei Mischform - Patienten nicht so ausgeprägt zu sein scheint, wie bei den primär - biliären Zirrhosen. Auch die Symptome des Ikterus scheinen im Spät-

stadium der Mischform weniger deutlich ausgeprägt als bei Patienten mit primär - biliärer Zirrhose.

III. Synopsis der Klinik der cholostatischen CAH (Mischform) und der primär - biliären Zirrhose.

Im Gegensatz zu dem Verlauf der primär - biliären Zirrhose, deren Stadien vor allem anhand des langsamen Anstiegs des Bilirubins und der alkalischen Phosphatase relativ eindeutig auch klinisch erfaßt werden können (Abb. 11), lassen sich bisher bei der Mischform keine eindeutigen Stadien abgrenzen. Es wird davon ausgegangen, daß in dieser Studie kaum echte Frühstadien erfaßt wurden, da die klinische Symptomatik oft sehr uncharakteristisch ist. Ferner muß berücksichtigt werden, daß Leber - Blindbiopsien nicht immer eindeutige Auskunft geben über das Ausmaß der schon bestehenden Zirrhose.

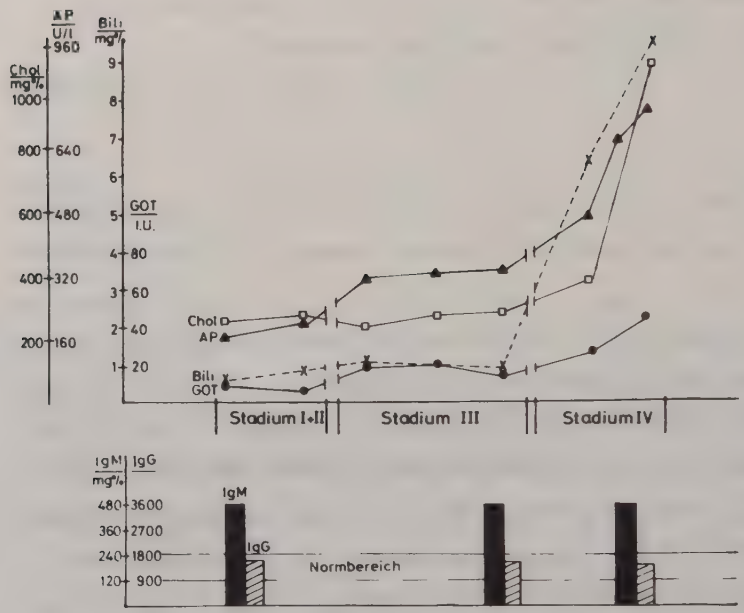

Abb. 11: Biochemische Parameter in der Früh- und Spätphase einer primär - biliären Zirrhose. (Mittelwerte aus je 3 Patienten pro morphologisches Stadium)
Stadium I und II: Entzündungs- und Proliferations- - Stadium. Nach einer entzündlichen Duktulusläsion kommt es im Stadium II zur kompensatorischen Proliferation.
Stadium III: Vernarbung und fibröse Septenbildung. Rückgang der entzündlichen Infiltration.
Stadium IV: Ausgeprägte Zirrhose.
Chol.: Cholesterin
AP : alkalische Phosphatase
Bili : Bilirubin

Für die PBC und ihre Frühstadien darf gelten, daß im Stadium I - III die Transaminasen normal oder nur gering erhöht sind, daß das Bilirubin im Normbereich liegen kann, während die alkalische Phosphatase schon relativ früh erhöht ist.

Das Stadium IV ist dadurch charakterisiert, daß es relativ schnell zu einem Anstieg des Bilirubins kommen kann. Werte von 10 - 15 mg% werden jedoch selten überschritten. Dagegen steigen die Transaminasen nur mäßig an,und die alkalische Phosphatase kann im Finalstadium abfallen. Die Immunglobuline vom IgG - Typ sind in keinem Stadium erhöht.

Dagegen ist das Spätstadium der Mischform wesentlich uncharakteristischer: Bilirubin und Transaminasen steigen nicht immer kontinuierlich an und sprechen, ähnlich wie die alkalische Phosphatase, gut auf eine immunsuppressive Therapie an (Abb. 12). Immunglobuline vom IgG - und IgM - Typ sind meist deutlich erhöht.

Die klinischen Symptome eines Pruritus, einer Hepatosplenomegalie, eines Sicca - Syndroms und Xanthomata sind in beiden Krankheitsbildern etwa gleich häufig anzutreffen (siehe Tab. III).

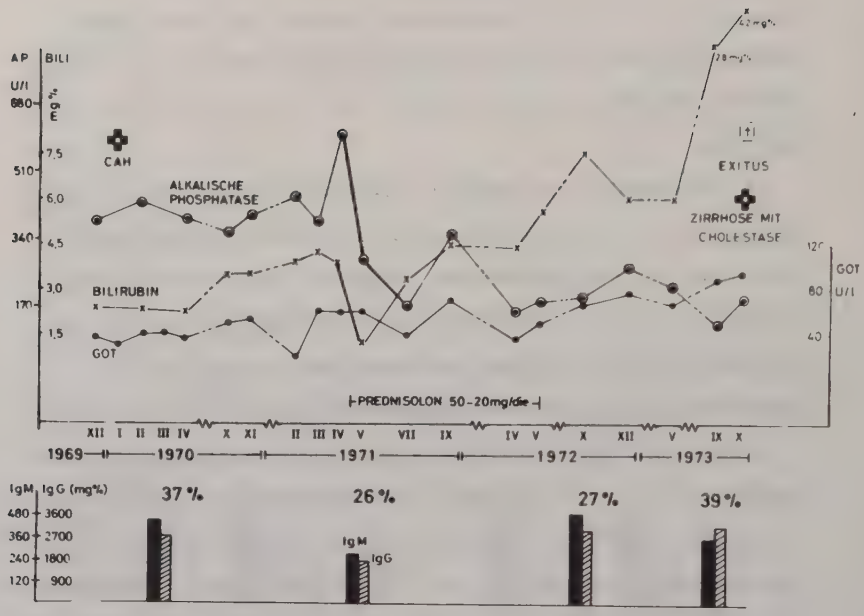

Abb. 12: Biochemische Parameter im Verlauf einer cholostatisch verlaufenden chronisch - aggressiven Hepatitis (Mischform).
Pat.: A. B. ♀ geb. 7. 7. 16

Wesentliche diagnostische Kriterien für die Mischform sind demnach:

1. erhöhte Immunglobuline über 30 - 35 rel %
2. gleichzeitig erhöhte IgG- und IgM - Globuline (jedenfalls ausgeprägt im Spätstadium)

3. deutliches Ansprechen auf eine immunsuppressive Therapie mit Abfall der alkalischen Phosphatase, der Transaminasen und der Immunglobuline.

Morphologisch ist das Spätstadium vor allem durch die histologischen Parameter einer postnekrotischen Zirrhose charakterisiert mit noch deutlichen entzündlichen Reaktionen und duktulären Proliferationen.

Wesentliches serologisches Differentialdiagnostikum stellt die spezifische Reaktion mit dem Mischform - Antigen dar. (Abb. 13)

Neben den für die Mischform spezifischen mitochondrialen Antikörpern sind vor allem häufig Antikörper gegen glatte Muskulatur, nicht so häufig jedoch gegen Kerne anzutreffen. (s. Abb. 8)

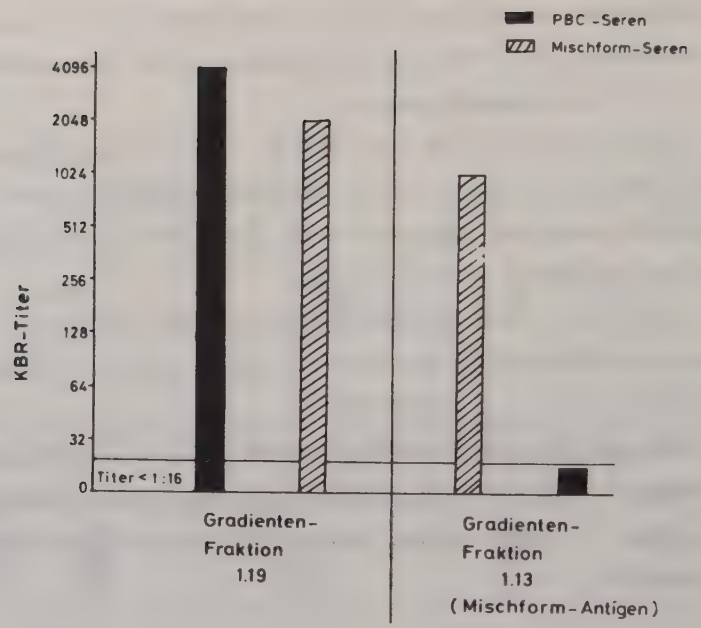

Abb. 13: Mittlere KBR - Titer der Seren von Patienten mit primär - biliärer Zirrhose und Mischform, getestet mit dem PBC - Marker - Antigen des Dichtegradienten 1,19 (60 Std. - Zentrifugation) und dem gereinigten Mischform - Antigen der Dichte 1,10 (15 Std. kombinierte Gradientenzentrifugation)

SEROLOGISCHER TEIL

I. Serologische Untersuchungen zur Spezifität zytoplasmatischer Antikörper und ihrer Titerhöhe.

Seit der Beschreibung mikrosomaler Antikörper bei chronischen Lebererkrankungen (36, 37, 47) sowie verschiedener anderer zytoplasmatischer Antikörper ist man hinsichtlich der Interpretation des fluoreszenzserologischen Musters zum Nachweis mitochondrialer Antikörper vorsichtiger geworden. Man weiß heute, daß mikrosomale- und andere zytoplasmatische-, nicht mit Mitochondrien assoziierte Antikörper ein ähnliches Immunfluoreszenzmuster zeigen können. Insofern war es notwendig auszuschließen, daß die in der Immunfluoreszenz AMA - positiven Seren nicht mit anderen (entweder löslichen zytoplasmatischen- oder mikrosomalen-) Antigenen reagierten.

Aus diesem Grunde wurden die Seren von 76 Patienten, die eine eindeutige zytoplasmatische Immunfluoreszenz zeigten und mit Zytoplasmaextrakt in der Komplementbindungsreaktion reagierten, auf ihre Spezifität untersuoht. Diese Seren wurden mit 6-fach gereinigten Mitochondrien getestet sowie mit einer mikrosomalen Fraktion, mit der unsere PBC - Standartseren nicht mehr reagierten. In der Tabelle IV sind die

Antigen-System	Antikörper spezifisch für PBC (M_1)	PLE (M_2)	MF (M_3)	CAH mit mikrosomalen AK's
1.19	+/++	ø	+/++	●
1.12	ø	++	+	●
1.10	ø	ø	+/++	ø
1.03	ø	ø	ø/+	ø/●
SN 40	+	+	++	++
Mitochondrien	+	+	+	ø
Mikrosomen	ø	ø	ø	+

Tab. IV: Reaktionsmuster der einzelnen Antikörper in der KBR mit verschiedenen subzellulären Antigenen und gereinigten Mitochondrien sowie Mikrosomen.

ø keine Titer
\+ Titer bis 1 : 4000
++ Titer höher als 1 : 4000
● Titer eventuell auf mikrosomale Kontamination zurückzuführen.

Ergebnisse dieser Austestung schematisch gezeigt. Von 76 Seren reagierten 58 eindeutig mit gereinigten Mitochondrien, 18 reagierten mit dem mikrosomalen Pellet.

II. Charakterisierung der für PBC und Mischform spezifischen mitochondrialen Antikörper.

In einem weiteren Schritt wurden alle AMA - positiven Seren mit den Gradienten getestet, die nach der isopyknischen Zentrifugation (60 Stunden im SW 27) erhalten wurden (siehe Methodenteil Seite 12).

Es zeigte sich, daß 34 Seren sowohl mit der Dichte 1.12 als auch 1.19 Komplement fixierten. Diese 34 Seren reagierten alle mit dem Mischform - Antigen. Von den 24 Seren, welche mit dem Mischform - Antigen nicht reagierten und als PBC - Seren klassifiziert wurden, fixierten nur 2 gleichzeitig Komplement in den Dichten 1.12 und 1.19.

Seren von Patienten mit cholostatischer CAH (Mischform) reagierten vor allem hochtitrig mit dem Antigen der Dichte 1.19 (1 : 256 bis 1 : 32000) während die Titer mit den Antigenen der Dichte 1.12 wesentlich niedriger lagen (1 : 256 bis 1 : 4000).

III. Vergleich der Titer zwischen Mischform - Seren, PBC- - Seren und Seren von Patienten mit mikrosomalen Antikörpern.

Um sicher zu sein, daß nicht unterschiedliche Titerhöhen

oder Prozonen- Phänomene zu der unterschiedlichen Reaktion zwischen den Mischform- und PBC - Seren führten, wurden die mit dem Überstand 40 000 rpm erhaltenen Antikörpertiter mit den Titern gegen das Mischform - Antigen verglichen.(Abb.14) Dabei zeigte sich, daß die Seren von Patienten mit Mischform und den Patienten mit mikrosomalen Antikörpern hochtitrig mit einem Antigen im Überstand 40 000 rpm reagierten (Titer zwischen 1 : 250 bis 1 : 64 000) und daß auch die Seren von Patienten mit primär - biliärer Zirrhose mit diesem Überstand reagierten, wenngleich mit durchschnittlich niedrigeren Titern. Wie die Abbildung weiter zeigt, hatten Seren von Patienten mit mikrosomalen- oder PBC - Antikörpern selbst mit einem Überstand - Titer von 1 : 16 000 bis 1 : 64 000 keine Reaktion mit dem Mischform - Antigen. Diese Befunde deuten an, daß es sich bei dem Mischform - Antigen jedenfalls um eine stark gereinigte Antigenfraktion handelte, die keine mikrosomalen Antigene,aber auch keine stärkere Kontamination mit dem PBC - Antigen enthielt.

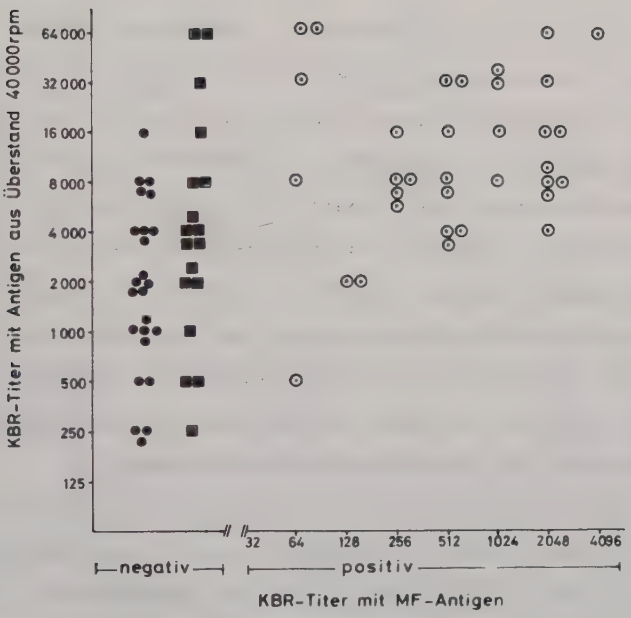

Abb. 14: Antigenspezifität der komplementbindenden Antikörper bezüglich des gereinigten Mischform - Antigens.

- ● PBC - Antikörper (M_1)
- ⊙ Mischform - Antikörper (M_3)
- ▣ Antikörper gegen ein noch nicht definiertes mikrosomales Antigen.

IV. Zur Heterogenität der Mischform - Antikörper

Bei der Testung der Saccharose - Gradienten aus der 60 - Stunden - Zentrifugation (Dichten von 1.099 bis 1.24) zeigte sich, daß manche Mischform - Seren nicht nur gleichzeitig mit den Gradienten der Dichte 1.12 und 1.19, sondern auch mit dem Gradienten 0 der Dichte 1.03 reagierten. Damit stellte sich die Frage, inwieweit es sich hier um einen zweiten Antikörper handelt, der mit bisher noch nicht definierten, wahrscheinlich löslichen Proteinen aus dem Zytoplasma reagierte. Es wurden deshalb die jeweiligen Mischform - Antikörpertiter mit den positiven und negativen Befunden der Komplementbindungsreaktion mit dem Gradienten 0 verglichen.

Die Abb. 15 und 16 zeigen, daß die Reaktion mit den Antigenen des Gradienten 0 unabhängig von der jeweiligen Titerhöhe mit dem isolierten Mischform - Antigen ausfiel, so daß eine Kontamination des Gradienten 0 mit dem Mischform - Antigen als Ursache dieser Reaktion unwahrscheinlich war.

Aus diesen Untersuchungen lassen sich mit Hilfe des Marker-Antigens des Gradienten 0 zwei Reaktionsformen innerhalb der Mischform - Seren unterscheiden: Typ I mit Antikörpern gegen ein lösliches Protein des Dichtegradienten 1.03 und Typ II ohne Titer gegen dieses noch nicht näher definierte Antigen. In Abb. 17 sind die Antikörpertiter zwischen Antigenen des Überstandes 40 000 rpm und denen des Dichtegradienten 1.03

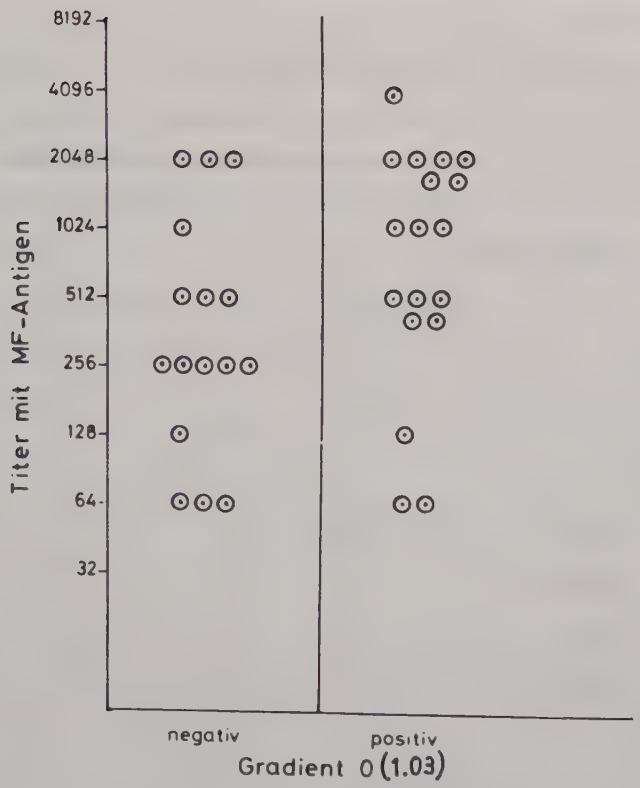

Abb. 15: Vergleich der Titerhöhen mit dem Mischform - Antigen von 16 Gradient O-negativen und 18 Gradient O-positiven Mischform - Seren. Der Test erfolgte an dem gleichen Tag mit Antigen aus dergleichen Präparation.

verglichen. Aus dem Vergleich geht hervor, daß 16 Seren keine Antigkörper gegen den Dichtegradienten 1.03 enthielten, trotz zum Teil hohen Titern gegen Antigene des Überstandes 40 000 rpm. Daraus kann geschlossen werden, daß der Überstand 40 000 rpm Antigene enthält, die im Gradienten 0 nicht mehr enthalten sind.

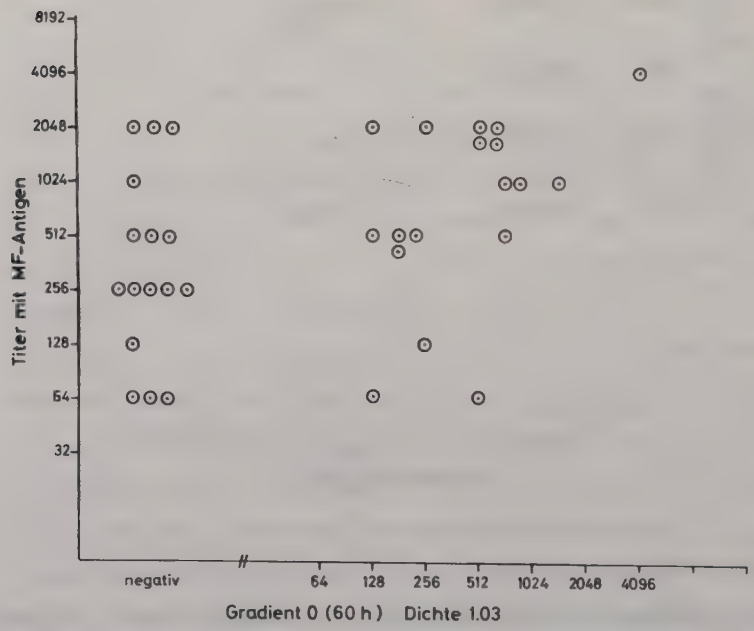

Abb. 16: Vergleich der komplementbindenden Antikörper - Titer zwischen dem Mischform - Antigen und Antigenen des Gradienten 0 (Dichte 1.03). Von den 34 Mischform-Seren reagierten 18 gleichzeitig mit dem Antigen der Dichte 1.03 mit Titern zwischen 1/128 und 1/4096.

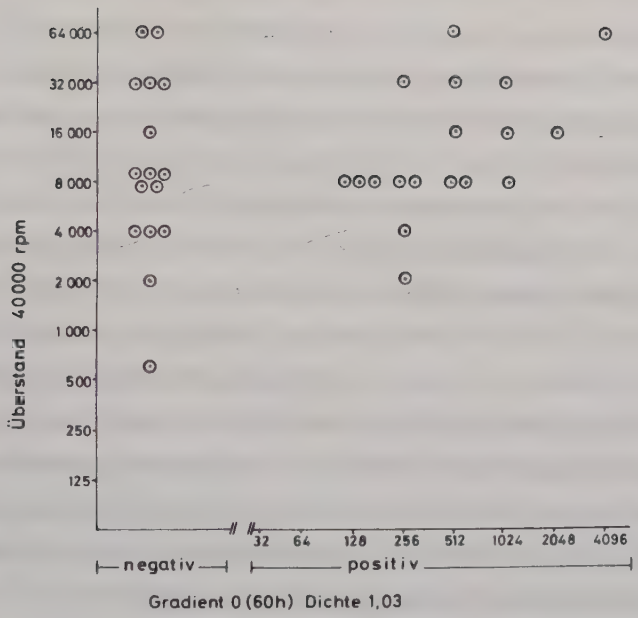

Abb. 17: Vergleich der komplementbindenden Antikörper - Titer zwischen Antigenen des Überstandes 40 000 rpm und Antigenen des Dichtegradienten 1.03 (Gradient 0). Unter den 34 Mischform - Seren reagierten 18 mit Antigenen des Dichtegradienten 1.03, während 16 trotz stark positiver Reaktion mit den Antigenen des Überstandes 40 000 mit dem Gradienten 0 (Dichte 1.03) keine Komplementbindungsreaktion zeigten.

DISKUSSION

Durch die Isolierung von verschiedenen subzellulären Antigenen ist es gelungen, die mit mitochondrialen Antikörpern assoziierten cholostatischen Leberkrankheiten besser zu charakterisieren.

Während bei den 24 Patienten mit primär - biliärer Zirrhose in über 95 % die Diagnose durch die vorherrschende Cholostase, den AMA - Nachweis und die Histologie richtig gestellt werden konnte, waren die Diagnosen bei den 34 jetzt serologisch als Mischform klassifizierten Patienten keineswegs einheitlich. So wurden fast die Hälfte der Mischform - Patienten mit der primär - biliären Zirrhose in Zusammenhang gebracht. Auffallend war, daß bei den Mischform - Patienten klinisch - - biochemisch eine für die PBC typische Konstellation bestand, während histologisch das klassische Bild der CAH beschrieben wurde. In etwa 10 % wurden beide Krankheitsbilder (CAH und/ oder PBC) gleichzeitig beschrieben. Bei rund 40 % der Mischform - Patienten wurde ursprünglich eine chronisch - aggressive Hepatitis bzw. postnekrotische Zirrhose klinisch diagnostiziert. 32 der 34 Mischform - Patienten waren weiblichen Geschlechts, unter den 24 Patienten mit PBC war nur ein Patient männlichen Geschlechts. Die Altersverteilung lag in unserem Krankengut zwischen 40 und 80 Jahren bei den Mischformen (Mittel 59) und zwischen 45 und 70 Jahren bei den PBC -

- Patienten (Mittel 55).

Die Diagnose der cholostatischen CAH bzw. Mischform ist in vielen Fällen nicht einfach zu stellen. Das Krankheitsbild beginnt meist schleichend. Müdigkeit, Appetitlosigkeit sind bei etwa 80 % der Patienten vorhanden. Bei 30 % war der Ikterus das erste Symptom. Der Pruritus als Frühsymptom scheint in diesen Fällen seltener zu sein als bei der primär- - biliären Zirrhose. Hervorstechende klinische Befunde sind die Hepatosplenomegalie, die in dem Krankengut aus Hamburg bei etwa 50 - 75 % der Fälle beobachtet werden konnte. Sehr oft lag eine ausgeprägte Anämie vor.

Laborchemisch imponierten einerseits Parameter wie wir sie nicht selten bei der CAH finden mit mäßig erhöhten Transaminasen (25 - 100 U/l) und einer Hypergammaglobulinämie über 30 rel%, zum anderen waren die klassischen Zeichen der PBC vorhanden, mit ausgeprägter Cholostase wie erhöhter Gamma - - GT, alkalischer Phosphatase und IgM - Globulinen. Beide Krankheitsbilder ließen sich vor allem durch die Verteilung der quantitativen Immunglobuline unterscheiden. So fanden wir bei allen Mischform - Patienten eine gleichzeitige Erhöhung der Immunglobuline sowohl vom IgM - wie auch vom IgG - Typ, während die Patienten mit PBC auch im Spätstadium immer normale IgG - Globuline zeigten.

Nach bisherigen morphologischen Untersuchungen, die vor allem von Herrn Priv. Doz. Dr. G. Klöppel (am Path. Institut der Univ. Hamburg) an Patienten aus dem DRK - Krankenhaus

Hamburg durchgeführt wurden, scheint die Mischform histologisch nicht in das typische Endstadium der primär - biliären Zirrhose überzugehen. Während das Spätstadium der primär - - biliären Zirrhose durch eine Rarifizierung des Gallengangsystems charakterisiert ist, zeigten Patienten mit der Mischform auch im Endstadium der Zirrhose noch ausgeprägte duktuläre Wucherungen neben entzündlichen Veränderungen am Leberparenchym.(29) Im Spätstadium herrscht hier das Bild der postnekrotischen Leberzirrhose vor.

Weiterhin scheinen sich beide Krankheitsformen in ihrem Verhalten gegenüber der immunsuppressiven Therapie zu unterscheiden: Während Patienten mit Mischform unter einer kombinierten Therapie mit Steroiden und Azathioprin mit einem Rückgang der alkalischen Phosphatase und der erhöhten Immunglobuline reagierten, liessen sich diese Parameter bei den Patienten mit primär - biliärer Zirrhose dadurch nicht beeinflussen.

Kürzlich wurde aus dem Arbeitskreis um Summerskill darauf hingewiesen, daß eine Differenzierung der cholostatischen CAH von der PBC mit Hilfe der immunsuppressiven Therapie möglich ist. (23) Die Autoren konnten zeigen, daß nur Patienten mit einer cholostatischen CAH nach 6 Monaten gut auf die kombinierte Therapie mit Steroiden und Azathioprin ansprachen, nicht aber Patienten mit einer klassischen primär - - biliären Zirrhose. Auch in früheren Therapie - Studien wie von Sherlock, Mulligan und Cook wurde darauf hingewiesen,

daß Patienten mit einer primär - biliären Zirrhose auf eine immunsuppressive Therapie nicht ansprachen, während bei Patienten mit einer CAH oder postnekrotischen Zirrhose die Überlebensrate deutlich gehoben werden konnte (14).

Diese Ergebnisse werfen erneut das Problem auf, inwieweit es sich in den hier beschriebenen Fällen von Mischformen um ein eigenständiges Krankheitsbild handelt oder um eine Überlappung zwischen lupoider Hepatitis und primär - biliärer Zirrhose, wie sie ursprünglich von Walker und Doniach postuliert wurden (17). Die unterschiedliche Spezifität mitochondrialer Antikörper bei der primär - biliären Zirrhose und der cholostatischen CAH läßt eher vermuten, daß ein eigenständiges Krankheitsbild vorliegt. Auch die Beobachtung, daß Patienten mit Mischform zwar sehr häufig Antikörper gegen glatte Muskulatur, jedoch relativ selten Antikörper gegen Kerne aufwiesen, spricht gegen das Konzept eines gleichzeitig an den Gallengängen und am Leberparenchym auftretenden immunologischen Prozesses im Sinne einer Überlappung. Allerdings sprechen einige Beobachtungen (unveröffentlichte Mitteilung) dafür, daß in vereinzelten Fällen das Bild einer lupoiden Hepatitis sowie einer Cholangitis gleichzeitig vorliegen kann. Auch konnten wir beobachten, daß stark positive Antikörper gegen Kerne sowie mitochondriale Antikörper vom PBC - Typ im Wechsel bei einigen Patienten auftraten. Weitere Verlaufsbeobachtungen sind notwendig, um endgültig zu klären, ob in solchen Fällen eine echte Überlappung dieser beiden Autoimmunkrankheiten vor-

liegt. Die bisherigen Ergebnisse deuten darauf hin, daß diese Patienten eine Zirrhose vom posthepatitischen Typ entwickeln. Auf die Möglichkeit der Überlappung wurde auch in früheren Studien vielfach hingewiesen. So beschrieben die Arbeitsgruppen um Popper und Christoffersen histologische Befunde wie auch klinische Krankheitsbilder, welche einer Überschneidung zwischen primär - biliärer Zirrhose und der chronisch - aggressiven Hepatitis entsprachen (13, 30, 35).

Die bisherigen serologischen Befunde bei den Mischformen müssen die Frage offenlassen, ob hierbei nur mitochondriale Antikörper einer bestimmten Spezifität vorkommen oder ob neben diesen Antikörpern ein zweiter gleichzeitig auftritt, der eventuell mit anderen löslichen cytoplasmatischen oder mitochondrialen Antigenen reagiert. Vorläufige Untersuchungen über komplementbindende Antikörper bei den Mischformen legen den Verdacht nahe, daß jedenfalls in einem Teil der Fälle auch Antikörper gegen lösliche Proteine auftreten. So konnten wir in etwa der Hälfte der Mischformseren eine Komplementbindungsreaktion mit Antigenen aus den Saccharose - Gradienten der Dichte 1.03 beobachten. Bei dem Vergleich der 18 positiven Seren mit den antimitochondrialen Titern und den Titern gegen das Mischformantigen ließ sich eine deutliche Dissoziation nachweisen. Somit konnte mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden, daß diese Reaktion auf Grund einer Verunreinigung des Dichtegradienten 1.03 mit Mischformantigen zustande gekommen war.

In den vorliegenden Untersuchungen konnte auch nicht eindeutig geklärt werden, ob nicht diese Reaktionen durch mit Mikrosomen assoziierten Antigenen ausgelöst wurde.

Die hierbei beobachteten Antikörper haben sicherlich keine pathogenetische Bedeutung, sondern sind nur ätiologische Marker. Da es sich jedoch bei diesen Antikörpern eindeutig um Reaktionen mit Autoantigenen handelt, muß davon ausgegangen werden, daß bei diesen Krankheiten die Toleranz gegenüber jenen Autoantigenen verloren gegangen ist. Für die Mischform ist denkbar, daß ein gleichzeitig an den Gallengängen und am Leberparenchym vorkommendes Autoantigen seine Tolerenz verloren hat, so daß eine zellvermittelte Immunreaktion sich an beiden Systemen abspielen kann. Die Beobachtung, daß bei den Mischformen die entzündlichen Prozesse am Leberparenchym stärker ausgeprägt sein können als an den Gallengängen, könnte damit erklärt werden, daß die Konzentration der gebildeten Neo - Antigene größer im Bereich des Leberparenchyms als in den Gallengängen ist.

Diese serologischen Untersuchungen zeigen jedenfalls, daß mit Hilfe von spezifischen Marker - Antigenen eine bessere Charakterisierung unklarer, meist cholostatisch verlaufender Krankheitsbilder möglich ist.

Auf die Bedeutung dieser Klassifizierung im Hinblick auf die Anwendung einer immunsuppressiven Therapie wurde bereits hingewiesen.

Die hier erfolgte Darstellung eines wahrscheinlich eigenständigen Karnkheitsbildes einer cholostatisch verlaufenden Leberkrankheit mit Hilfe von Marker - Antigenen unterstreicht erneut die hohe Krankheitsspezifität humoraler Autoantikörper, die damit zu einer Verbesserung der Diagnose unklarer Krankheitsbilder wesentlich beitragen können.

ZUSAMMENFASSUNG

Antimitochondriale Antikörper können bei der primär - biliären Zirrhose, der cholostatisch verlaufenden CAH (Misch - form) bzw. deren Spätform, der kryptogenen Zirrhose, sowie bei dem durch Drogen induzierten Pseudo - LE - Syndrom nachgewiesen werden.

In früheren Untersuchungen ließ sich mit Hilfe der isopyknischen Saccharosegradienten - Zentrifugation von zytoplasmatischen Antigenen zeigen, daß diese Antikörper mit unterschiedlichen Antigen - Systemen reagieren. Jüngste Beobachtungen ließen ferner erkennen, daß sich auch die antimitochondrialen Antikörper (AMA) bei der primär - biliären Zirrhose und der Mischform in ihrer Spezifität unterscheiden. So reagierten von 58 AMA - positiven Seren 24 mit der Antigenfraktion der Dichte 1.19, während 34 Seren sowohl mit Antigenen der Dichte 1.19 als auch der Dichte 1.12 Komplement fixierten. Diese Seren konnten später mit dem isolierten Mischform - Antigen der Dichte 1.10 nachgetestet werden und zeigten im Gegensatz zu den Seren von Patienten mit primär - biliärer Zirrhose hochtitrige Reaktionen. Damit war es möglich, auch klinisch beide Formen mehr zu unterscheiden und zu vergleichen. Allerdings scheint es in der Gruppe der Mischformen eine zweite Reaktionsform zu geben, die sich dadurch auszeichnet, daß sie auch mit einem Antigen der Dichte 1.03 gleichzeitig Komplement bindet.

Wesentliche Unterscheidungsmerkmale zwischen der primär - biliären Zirrhose und der Mischform waren die Immunglobuline: Bei den Mischformen waren die Gamma - Globuline vor allem im Spätstadium deutlich erhöht mit gleichzeitiger Vermehrung der Immunglobuline vom IgG - und IgM - Typ. Dagegen wurde bei den primär - biliären Zirrhosen ausschließlich isolierte IgM - Globulin - Erhöhungen beobachtet.

Die cholostatische CAH bzw. Mischform scheint auch wesentlich ungesetzmäßiger zu verlaufen als die primär - biliäre Zirrhose. Unter einer kombinierten Therapie mit Azathioprin und Steroiden konnte nur bei den Mischformen eine Besserung der entzündlichen Parameter beobachtet werden. Histologisch unterschied sich die Mischform von der primär - biliären Zirrhose dadurch, daß ein Mischbild zwischen entzündlicher Reaktion an den Gallengängen mit massiven duktulären Proliferationen selbst im Spätstadium und am Leberparenchym vorherrschte, während bei Patienten mit primär - biliärer Zirrhose in der Spätphase keine entzündlichen Reaktionen mehr zu beobachten waren.

Diese Untersuchungen unterstreichen den diagnostischen Wert des Nachweises von antimitochondrialen Antikörpern und lassen vermuten, daß es sich bei der cholostatischen chronisch-aggressiven Hepatitis um ein eigenständiges Krankheitsbild handelt.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Andersen P.: Smooth muscle antibodies in sera with Paul - - Bunnell heterophil antibodies. Acta path. microbiol. scand C 83 (1975) 19

2. Andersen P., Molgaard J., Andersen J., Andersen H. K.: Smooth muscle antibodies and antibodies to cytomegalovirus and Epstein - Barr virus in leukemia and lymphomata. Acta path. microbiol. scand. C 84 (1976) 86

3. Baggenstoss A. H., Summerskill W. H. J., Ammon H. V.: The morphology of chronic hepatitis. In: Schaffner, Sherlock, Leevy (ed) The liver and its Diseases (Thieme Stuttgart 1974) 199

4. Berg P. A., Lindner H., Breitsohl - Mörk C., Merk K. H., Schlote W.: Different Specifities of Antimitochondrial Antibodies in Sera from Patients with PBC and Chronic Active Hepatitis with Cholestasis. Dig. Vol. 14 (1976) 457 - 458

5. Berg P. A., Binder T.: Demonstration of Mitochondrial Antibodies in Sera from Patients with Chronic Liver Diseases Reacting with Two Different Types of Complement- - Fixing Antigens. Chronic Hepatitis, Int. Symp. Monte Catini 1975. Ed.: Gentellini P., Popper H., Theodori U., pp 79 - 85 (S Karger Basel)

6. Berg P. A.: Chronisch - aktive (aggressive) Hepatitis. Zur Differentialdiagnose der lupoiden (ANA - positiven) und cholestatisch verlaufenden (AMA - positiven) Hepatitis. Dtsch. med. Wschr. 101 (1976) 1536-1543

7. Berg P. A., Traunecker U., Märker A.: Mitochondriale Antikörper bei nicht hepatischen Krankheiten. Häufigkeit, Signifikanz und differentialdiagnostische Bedeutung. Dtsch. med. Wschr. 98 (1973) 1186 - 1188

8. Berg P. A., Binder T., Lindner H., Bannaski H., Maas D., Henning H., Brügel H.: Heterogenität mitochondrialer Autoantikörper. Zur serologischen Diagnose der PBC und des PLE mit Hilfe von zwei verschiedenen Antigenfraktionen. Dtsch. med. Wschr. 100 (1975) 1123 - 1127

9. Berg P. A.; Theorien zur Entstehung von Autoimmunkrankheiten. Wochenschrift f. Klinik u. Praxis 68 (1973) 1205-1217

10. Berg P. A., Doniach D.: Autoimmune Hepatitiden. Klinische und immunpathologische Aspekte. Dtsch. med. Wschr. 97 (1972) 1468-1473

11. Berg P. A., Doniach D., Roitt I. M.: Mitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. I. Lokalization of the antigen to mitochondrial membrans. J. exp. Med. 126 277-290 (1967)

12. Bottazzo G. F., Florin-Christensen A., Fairfax A., Swana G., Doniach D., Groeschel-Stewart U.:Classifikation of smooth muscle autoantibodies detected by immunfluorescence. J. Klin. Path. 29 (1976) 403

13. Christoffersen P., Poulsen H., Scheuer P. J.: Abnormal bile duct epithelium in chronic aggressiv hepatitis and primary biliary cirrhosis. Human Path. 3 (1972) 227

14. Cook C. G., Mulligan R., Sherlock S.: Controlled pro-

spective trial of Corticosteriod therapy in active chronic hepatitis. Quart. J. Med. 40 (1971) 159

15. Copenhagen Study Group for Liver Diseases: Sex, ascites and alcoholism in survival of patients with cirrhosis. Effect of prednisone. New Engl. J. Med. 291 (1974) 271

16. De Groote J. et al.: Lancet II (1968) 626

17. Doniach D., Walker J. G.: A unified concept of autoimmune hepatitis. Lancet I (1969) 813

18. Doniach D., Roitt J. M., Walker J. G., Sherlock S.: Tissue antibodies in primary biliary cirrhosis, active chronic hepatitis, cryptogenic cirrhosis and other liver diseases and their clinical implications. Clin. exp. Immunology 1 (1966) 237

19. Fagraeus A., Lidmann K., Biberfeld G.: Reaction of human smooth muscle antibodies with human blood lymphocyts and lymphoid cell lines. Nature (Lond.) 252 (1974) 246

20. Farrow L. J., Holboro E. I., Johnson G. D., Lamb S. G., Stuart J. S., Taylor P. E., Zuckermann A. J.: Autoantibodies and the hepatitis - associated antigen in acute infective hepatitis. Brit. med. J. i: (1970) 693

21. Fischer J. A., Schmid M.: Treatment of primary biliary cirrhosis with Azathioprene. Lancet: 421 (1967)

22. Gabbiani G., Ryan G. B., Lamelin J. P., Vassalli P., Majno G., Bouvier C. A., Cruchaud A., Luscher E. F.: Human smooth muscle autoantibody. Amer. J. Path. 72 (1973) 473

23. Geubel A. P., Baggenstoss A. H., Summerskill W. H.: Response to treatment can differentiate chronic active liver diseases with cholangitic features from the primary biliary cirrhosis syndrom. Gastroenterology 71 (1976) 444

24. Hadziyannis S., Scheuer P. J., Feizi T., Naccarato R., Doniach D., Sherlock S.: Immunological and histological Studies in primary cirrhosis. J. Clin. Path. 23 (1970) 95

25. Holborow E. J. , Hemsted E. H., Head S. V.: Smooth muscle autoantibodies in infectious mononucleosis. Brit. med.J. 3 (1973) 323

26. Hopf U., Arnold W., Meyer zum Büschenfelde K. H., Förster E., Bolte J. P.: Studies on the Pathogenesis of Chronic Inflammatory Liver Diseases. I Membrane - fixed IgG on isolated Hepatocytes from Patients. Clin exp. Immunol.22 (1975) 1-8

27. Hopf., Meyer zum Büschenfelde K. H., Arnold W.: Detection of a Liver - Membrane Autoantibody in Hb_sAG - negative Chronic Active Hepatitis. Engl. J. Med. 294 (1976) 578 - - 582

28. Klatskin G., Kantor F. S.: Mitochondrial antibody in primary biliary cirrhosis and other diseases. Ann. intern. Med. 77 (1972) 533.

29. Klöppel G., Seifert G., Lindner H., Dammermann R., Sack H.J., Berg P.A: Histopathological Features in Mixed Types of Chronic Aggressive Hepatitis and Primary Biliary Cirrhosis. Correlations of Liver Histology with Mitochondrial

Antibodies of Different Specifity. Virchows Arch. Path. Anat. and Histol. 373 (1977) 143-160

30. Lüders C. J., Kruck P., Henning D., Look D.: Histologische und klinische Untersuchungen zur Differentialdiagnose der aggressiven chronischen Hepatitis und der primär biliären Leberzirrhose. Gastroenterologie6 (1974) 467

31. Maas D., Schubothe H.: Ein Lupus-Erythematodes-ähnliches Syndrom mit antimitochondrialen Antikörpern. Dtsch. med. Wschr. 98 (1973) 131

32. Mackay J. R., Whittingham S.: Autoimmune chronic hepatitis. Postgrad. Med. 41 (1967) 72

33. Mackay I. R., Wood O. J.: Lupoid hepatitis. A comparison of 22 cases with other types of chronic liver disease. Quart. J. Med. 31 (1962) 485

34. Maclachlan M. J., Rodnan G. P., Cooper W. M., Fennel R. H.: Chronic active (lupoid) hepatitis. A clinical, serological and pathological study of 20 patients. Ann. intern. Med 62 (1965) 425

35. Popper H. ., Schaffner F.: Non suppurative destructive chronic cholangitis and chronic hepatitis. In: Popper H., Schaffner F. (ed): Progress in Liver Diseases, Vol 3 (Grune and Stratton: New York 1970) 336

36. Rizzetto M., Bianchi F. B., Doniach D.: Characterization of the microsomal antigen related to a subclass of active chronic hepatitis. Immunology (1974) 589

37. Rizzetto M., Swana G., Doniach D.: Microsomal antibodies

in active chronic hepatitis and other disorders. Clin. exp. Immunol. 15 (1973) 331

38. Roitt I. M., Doniach D.: Complement - fixation test for thyroid, stomach, adrenal, mitochondrial and other non organ - spezific cytoplasmatic antibodies. WHO Manual for Immunological Techniques (Geneva 1969)

39. Roitt I. M., Doniach D.: Immunfluorescent tests for the detection of autoantibodies. WHO Manual for Immunological Techniques (Geneva 1969)

40. Ross A., Sherlock s.: A controlled trial of Azathioprene in primary biliary cirrhosis. Gut 12 (1971) 770

41. Ruckstuhl P., Cuemi B., Schmid M.: Chronische aggressive Hepatitis in Kombination mit chronisch destruierender nicht eitriger Cholangitis (sog. PBC) Schweiz. med. Wschr. 101 (1971) 741

42. Schmid M: Einteilung und Klinik der chronischen Hepatitis. Leber Magen Darm 1 (1971) 56

43. Schmid M.: Die chronische Hepatitis. Vergleichende klinische und biologische Untersuchungen (Springer: Berlin - Heidelberg - New York 1966)

44. Schumacher K.: Immunpathologie der chronischen Hepatitis. Gastroenterologie und Stoffwechsel, Bd. 6 (Thieme: Stuttgart 1975)

45. Sharp G. C., Williams S. J., Robert L. La Roque, Velez C., Daly V., Kaiser A. D., Halsted R. Holmann: Association of autoantibodies to different nuclear antigens with

clinical patterns of rheumatic diseases and responsivness to therapie. J. Clin. Invest. 50 (1971) 350

46. Sherlock S.: The immunology of liver disease. Amer. J. Med. 49 (1970) 693

47. Smith M. G. M., William R., Walker J. G., Rizzetto M., Doniach D.: Hepatic disorders associated with liver kidney microsomal (LKM) antibodies. Brit. Med. J. 2 (1974) 80

48. Sherlock S.: The immunology of liver disease. Amer. J. Med. 49 (1970) 693

49. Soloway R. D., Summerskill W. H. J., Baggenstoss A. H., Schoenfield L. J.: Liver physiology and disease. Clinical biochemical and histological remission of severe chronic active liver disease: a controlled study of treatments and early prognosis. Gastroenterology 63 (1972) 820

50. Soloway R. D., Summerskill A. H., Baggenstoss A. H., Schoenfield L. J.: Lupoid hepatitis, a non-entity in the spectrum of chronic active liver disease. Gastroenterology 63 (1972) 458

51. Summerskill W. H. J.: Chronic active liver disease reexamined: prognosis hopeful. Gastroenterology 66 (1974) 450

52. Summerskill W. H. J., Ammon H. V., Baggenstoss A. H.: Treatment of chronic hepatitis. In: Schaffner F., Sherlock S., Leevy C. M., (ed): The liver and its Diseases (Thieme: Stuttgart 1974) 216

53. Swana G. T., Swana M. R., Bottazzo G. F., Doniach D.: A human-specific mitochondrial antibody (AHMA): its importance in the identification of organspecific reactions. Clin. exp. Immunol. 27 (1977) in press

54. Thaler H.: Systematische, morphologische und klinische Probleme der chronischen Hepatitis. Internist (Berlin) 14 (1973) 604

LEBENSLAUF

Am 7. April 1951 wurde ich, Karl-Heinz Merk, als Sohn des Alfons Merk und der Maria Merk, geb. Moll, in Rottweil geboren. Nach dem Volksschulabschluß (1958–1966) trat ich 1966 in das Staatliche Aufbaugymnasium mit Heim in Saulgau ein, wo ich 1971 die Reifeprüfung bestand. Zum Wintersemester 1971/72 ließ ich mich an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen für das Studienfach Medizin immatrikulieren. Den 1. und 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung legte ich im Wintersemester 1974/75 (25.3.1975) bzw. Wintersemester 1976/77 (31.3.1977) ab. Von April 1977 bis April 1978 war ich am Akademischen Lehrkrankenhaus Reutlingen als Medizinstudent im Praktischen Jahr tätig. Den 3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung bestand ich am 17./18. April 1978 schriftlich in Tübingen und am 24. April 1978 mündlich im Akademischen Lehrkrankenhaus Reutlingen. Seit dem 5. Juni 1978 bin ich bei der Bundeswehr als Stabsarzt tätig.

City Schnelldruck, Marcusstraße 10, 8700 Würzburg